

多発性硬化症および HTLV-? 関連脊髄症患者における髄液 IgG 認識抗原の検索

著者	藤盛 寿一
号	2122
発行年	2004
URL	http://hdl.handle.net/10097/22667

氏 名（本籍）	ふじ 藤	もり 盛	じゅ 寿	いち 一
学 位 の 種 類	博	士	（ 医 学 ）	
学 位 記 番 号	医 博 第	2 1 2 2	号	
学位授与年月日	平 成	16 年	3 月	25 日
学位授与の条件	学位規則第 4 条第 1 項該当			
研 究 科 専 攻	東北大学大学院医学系研究科			
	（博士課程）医科学専攻			
学 位 論 文 題 目	多発性硬化症および HTLV- I 関連脊髄症患者に			
	おける髄液 IgG 認識抗原の検索			

（主 査）

論 文 審 査 委 員	教授 糸 山 泰 人	教授 菅 村 和 夫
	教授 小 柳 義 夫	

論文内容要旨

背景

多発性硬化症（MS）は、中枢神経症候が時間的および空間的多発性を示す中枢神経系の炎症性脱髄疾患であるが病態はいまだ不明である。髄液内で IgG が増加し、電気泳動にて少数のモノクローナル抗体によって構成される oligoclonal IgG bands (OB) として検出されるが、この所見は MS の診断において最も重要な検査所見のひとつである。近年その病態における液性免疫の重要性が再認識され、抗体の抗原結合領域の分子免疫学的解析により抗体が抗原特異的に産生されている可能性が示唆されているがその対応抗原はいまだ不明のままである。ファージディスプレイ法は標的分子に結合するペプチド配列を 10^9 種類のランダムなペプチドライブラリー群から選別する、未知の抗原の同定に有用な方法であり、本方法を用いて MS 髄液高親和性 IgG 抗体のエピトープ検索を行った。

目的

MS 髄液 IgG、特に髄液 OB の MS の病因における意義を明らかにする目的で、ファージディスプレイ法を用いて MS 髄液中の高親和性 IgG 抗体のエピトープ同定を試みた。

方法

ファージディスプレイ法の有用性を示す予備実験として HTLV-I 感染症である HTLV-I 関連脊髄症（HAM）の髄液を用いた検討を行った。さらにその検出された髄液 IgG エピトープの疾患特異性、抗原性について検討した。また従来のペプチド ELISA 法との比較、臨床症状との相関を検討した。続いて MS 髄液 IgG のエピトープをファージディスプレイ法を用いて同様に解析し共通抗原を検索した。検出頻度の高い抗原、特にウイルスについては詳細に検討を行い、髄液 OB との関連について検証した。

結果

HAM での検討の結果、ファージディスプレイ法により既知の抗原を同定できることが確認された。また HAM の病態については以下のことが新たに明らかとなった。すなわち髄液高親和性 IgG 抗体のエピトープとして HTLV-I gp46 蛋白（gp46 192-199, gp46 237-243, gp46 255-261）の 3 種類が検出されたが、これらは線状エピトープと考えられ HAM 患者特異的に高頻度に認められること、特に HTLV-I gp46 237-243 はこれまでに報告のない新たなエピトープであることが明らかとなった。また gp46 192-199 の相同配列に対する血清抗体価は症例の運

動機能障害度と、gp 46 237-243 および gp 46 255-261 の相同配列に対する血清抗体価は症例の罹病期間と有意に逆相関した。多発性硬化症（MS）では MS 特異的な髄液高親和性 IgG 抗体の共通認識配列もしくは共通認識抗原を同定することはできなかった。コントロールとの有意差を認めないものの検出された髄液 IgG 認識配列は単純ヘルペスウイルス 1 型（HSV-1）（64%）、Epstein-Barr（EB）ウイルス（50%）、サイトメガロウイルス（CMV）（50%）などとの相同が高頻度に認められ、ヘルペス属ウイルスに対する抗体が産生されている可能性が示唆された。また 1 例においては髄液高親和性 IgG 抗体が持続的に EB ウイルスの異なる 3 種類の構成蛋白を認識していることが疑われた。

結 語

神経免疫疾患の髄液 IgG のエпитープを検出可能なファージディスプレイ法を用いて MS 髄液高親和性 IgG 抗体のエピトープ解析を行った。MS 特異的な髄液 IgG の共通認識配列もしくは共通認識抗原を同定することはできなかった。MS 髄液 IgG および OB の一部がヘルペス属ウイルスなど普遍的な抗原を認識している可能性が示唆されたが、OB の主たる産生機序については不明で今後の検討を要すると思われた。

審 査 結 果 の 要 旨

多発性硬化症（MS）は、中枢神経症候が時間的および空間的多発性を示す中枢神経系の炎症性脱髄疾患であるが病態はいまだ不明である。髄液内で IgG が増加し、電気泳動にて少数のモノクローナル抗体によって構成される oligoclonal IgG bands (OB) として検出されるが、この所見は MS の診断において最も重要な検査所見のひとつである。近年その病態における液性免疫の重要性が再認識され、抗体の抗原結合領域の分子免疫学的解析により抗体が抗原特異的に産生されている可能性が示唆されているがその対応抗原はいまだ不明のままである。ファージディスプレイ法は標的分子に結合するペプチド配列を 10^9 種類のランダムなペプチドライブラリー群から選別する、未知の抗原の同定に有用な方法であり、本方法を用いて MS 髄液高親和性 IgG 抗体のエピトープ検索を行った。

ファージディスプレイ法の有用性を示す予備実験として HTLV-I 感染症である HTLV-I 関連脊髄症（HAM）の髄液を用いた検討を行った。さらにその検出された髄液 IgG エピトープの疾患特異性、抗原性について検討した。また従来のペプチド ELISA 法との比較、臨床症状との相関を検討した。続いて MS 髄液 IgG のエピトープをファージディスプレイ法を用いて同様に解析し共通抗原を検索した。検出頻度の高い抗原、特にウイルスについては詳細に検討を行い、髄液 OB との関連について検証した。

HAM での検討の結果、ファージディスプレイ法により既知の抗原を同定できることが確認された。また HAM の病態については以下のことが新たに明らかとなった。すなわち髄液高親和性 IgG 抗体のエピトープとして HTLV-I gp46 蛋白 (gp46 192-199, gp46 237-243, gp46 255-261) の 3 種類が検出されたが、これらは線状エピトープと考えられ HAM 患者特異的に高頻度に認められること、特に HTLV-I gp46 237-243 はこれまでに報告のない新たなエピトープであることが明らかとなった。また gp46 192-199 の相同配列に対する血清抗体価は症例の運動機能障害度と、gp46 237-243 および gp46 255-261 の相同配列に対する血清抗体価は症例の罹病期間と有意に逆相関した。多発性硬化症（MS）では MS 特異的な髄液高親和性 IgG 抗体の共通認識配列もしくは共通認識抗原を同定することはできなかった。コントロールとの有意差を認めないものの検出された髄液 IgG 認識配列は単純ヘルペスウイルス 1 型（HSV-1）（64%）、Epstein-Barr (EB) ウイルス（50%）、サイトメガロウイルス（CMV）（50%）などとの相同が高頻度に認められ、ヘルペス属ウイルスに対する抗体が産生されている可能性が示唆された。また 1 例においては髄液高親和性 IgG 抗体が持続的に EB ウイルスの異なる 3 種類の構成蛋白を認識していることが疑われた。

神経免疫疾患の髄液 IgG のエピトープを検出可能なファージディスプレイ法を用いて MS 髄液高親和性 IgG 抗体のエピトープ解析を行った。MS 特異的な髄液 IgG の共通認識配列もしくは共通認識抗原を同定することはできなかった。MS 髄液 IgG および OB の一部がヘルペス属ウイルスなど普遍的な抗原を認識している可能性が示唆されたが、OB の主たる産生機序については不明で今後の検討を要する。